

氏名	戴 荔
学位の種類	博 士 (理 学)
学位記番号	第4195号
学位授与年月日	平成14年9月26日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当者
学位論文名	Novel Biologically Active Components in Scorpion Venom (新規サソリ毒の構造とその生物活性に関する研究)
論文審査委員	主 査 教 授 大 船 泰 史 副主査 教 授 飯 尾 英 夫 副主査 客員教授 直 木 秀 夫 副主査 講 師 品 田 哲 郎

論 文 内 容 の 要 旨

サソリは古くから強力且つ多様な毒成分を有する動物として研究がなされてきた。しかし、その多様な毒の種類と生物活性特性、及びその含有量の低さから、研究は困難であった。本研究の目的は、超微量且つ正確な構造解析法を用いた毒成分の構造、及びその生物活性特性を明らかにすることである。研究対象サソリは、Buthidae族の*Isometrus europaeus*と*Buthus martensi* Karsch、それにIschnuridae族の*Liocheles australasiae*と*Opisthacanthus madagascariensis*の4種である。*Buthus martensi* Karschのペプチド毒成分は2つのグループに大別され、分子量3500付近のshort peptide groupから3つのS-S bondをもったK⁺ channel inhibitorが、また分子量7000付近のlong peptide groupから4つのS-S bondをもったNa⁺ channel inhibitorをそれぞれ単離・構造決定した。この結果を対照として、他の3種のサソリの毒成分のMALDI-TOF-MSによる化合物分布スペクトルを比較することで、*Opisthacanthus madagascariensis*、及び*Liocheles australasiae*はK⁺ channel inhibitorが、*Isometrus europaeus*はNa⁺ channel inhibitorが主成分であることを示唆する毒成分特性を確認した。

次に、マダガスカル産サソリ*Opisthacanthus madagascariensis*から4種のlinear peptide、及びHelutoxinと同じ2つのS-S bond bridge systemを有した4種のペプチドFb17, 18, 20, 27を、また、他のサソリから見いだされたK⁺ channel inhibitorと同じ4つのS-S bond bridge systemを有したペプチドHsTX1の構造を決定した。4種のlinear peptideのうち、アミノ酸13残基からなるIsCT, IsCT2はC末端がアミド化され、グラム陰性・陽性菌に対して強い抗菌活性を示すとともに、強い溶血活性をも示した。一方、C末端がフリーであるIsCTf, IsCT2fはこのような活性がないことから、活性発現にはC末端のアミド化が必須と結論した。またCDスペクトルからは脂溶性溶媒に対しては α ヘリックス、水溶性溶媒に対してはランダム構造を示唆する結果が得られ、両親媒性ペプチドであることを確認すると共に、活性特性を考慮すると、このペプチドが細胞表面においてポアーを形成することが強く示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

サソリは捕食・防御の手段として毒液を用いる。これまでに、毒液から主としてタンパク毒が見いだされており、各種イオンチャンネルに作用して神経麻痺を引き起こすことが報告されている。さらに多様な毒成分が含まれることが示唆されており、それらの構造や生理活性に興味をもたれていた。しかしながら、毒液の量的確保が困難なこと、また極微量成分であることから、構造や活性に関する研究が阻まれてきた。本研究では、主として各種高感度質量分析法を駆使した新規サソリ毒の構造決定・合成及びそれらの活性特性について述べている。

研究対象のサソリは、Buthidae族の *Isometrus europaeus* と *Buthus martensi* Karsch 及び Ischnuridae族の *Liocheles australasiae* と *Opisthacanthus madagascariensis* の4種である。毒液成分の分子量分布や新規成分の構造解析には、femtomole量の検出が可能な高感度質量分析法 (MALDI-TOF MS, μ -column LC-MS, MS/MS等)に加えて、酵素消化やエドマン分解及び化学合成等の手法も相補的に用いた。まず、*Buthus martensi*のMALDI-TOF MSを用いた分子量分布スペクトルを測定した。この結果とこれまでの構造研究から、*Buthus martensi*は K^+ channel inhibitorに帰属される short peptide group (分子量3500付近)と Na^+ channel inhibitorに帰属される long peptide group (分子量7000付近)に大別されるペプチド成分をもつことがわかった。これらの結果を対照として、他の3種のサソリ毒成分のMALDI-TOF MSによる分子量分布スペクトルの比較から、*Opisthacanthus madagascariensis*及び *Liocheles australasiae*には K^+ channel inhibitorが、*Isometrus europaeus*には Na^+ channel inhibitorが主成分として含まれることを明らかにした。また、*Opisthacanthus madagascariensis*は分子量4000付近に雌雄によって異なるペプチド分布をもつことを見いだした。次に、*Opisthacanthus madagascariensis*の新規ペプチド成分を検索した。その結果、4種の linear peptide (IsCT, IsCT2, IsCTf, IsCT2f)、hefutoxinと同じ2つの S-S bond bridge systemを有した4種のペプチド (Fb17, 18, 20, 27)、及び他のサソリから見いだされた K^+ channel inhibitorと同じ4つの S-S bond bridge systemをもつペプチド (IsTX)を単離・構造決定した。4種の linear peptideのうち、C末端がアミド化されたIsCTとIsCT2はグラム陰性・陽性菌に対して強い抗菌活性とともに溶血活性を示した。CDスペクトルの解析から、これらは両親媒性ペプチドであることを確認した。一方、IsTXは昆虫やマウスに強い神経麻痺活性を示した。さらに、*Isometrus europaeus*から4種の linear peptide (IE25, 26, 34, 36)の単離・構造決定を行った。

以上のように、本論文は、サソリの毒液に含まれる微量ペプチド成分の構造解析法の開発に基づき、4種のサソリの分子量分布を調べ、2種のサソリから合計13種の新規ペプチドを単離・構造決定し、それらの活性特性を明らかにした。よって、博士(理学)の学位を授与するに値するものと審査した。